PRESS RELEASE

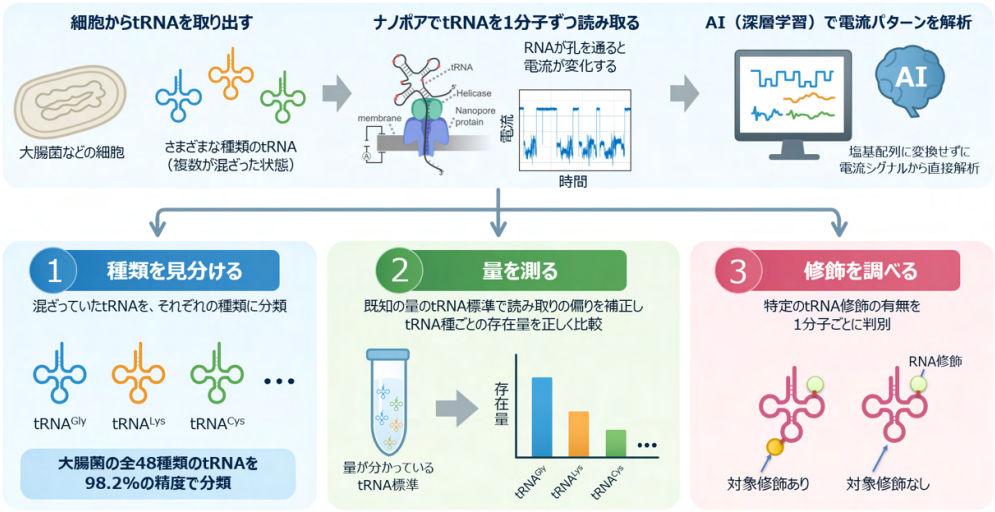
東京大学
科学技術振興機構（JST）
千葉大学

ナノポアと AI で tRNA の「種類・量・修飾」を読み解く

――電流シグナルの直接解析で、絶対定量と 1 分子レベルの修飾検出を実現――

発表のポイント

- ナノポアシーケンサーで測定した電流シグナルを深層学習で直接解析し、tRNA の種類を高精度に識別する手法を開発しました。大腸菌の全 48 種類の tRNA を区別するモデルで、98.2%の分類精度を達成しました。
- 精製 tRNA の等モル混合標準を用いて、tRNA ごとに異なる読み取り効率の偏りを補正する絶対定量法を確立しました。異なる tRNA 種の存在量を共通の基準で比較し、生育段階や栄養条件に伴う変動を捉えました。
- 特定の RNA 修飾の有無を、tRNA の 1 分子ごとに判別する手法も開発しました。tRNA の種類・存在量・修飾状態を統合的に解析することで、タンパク質合成の制御や疾患との関係を調べる基盤技術として期待されます。



概要図：ナノポア直接 RNA シーケンスと深層学習による tRNA の統合解析

概要

東京大学先端科学技術研究センターの上田 宏生 特任講師（千葉大学健康疾患オミクスセンター特任准教授兼担）と、東京大学大学院工学系研究科の鈴木 勉 教授らの研究グループは、タンパク質合成を担う tRNA（注 1）の種類・存在量・修飾状態を統合的に解析する技術を開発しました（図 1）。ナノポア直接 RNA シーケンス（注 2）で得られる電流シグナルを深層学習（注 3）で直接解析し、大腸菌の全 48 種類の tRNA を 98.2%の精度で分類しました。さらに、特定の RNA 修飾（注 4）の有無を 1 分子レベルで判別する手法も開発しました。

tRNA は、メッセンジャーRNA（mRNA）に記された遺伝暗号とアミノ酸を対応づける分子です。その存在量や修飾状態は、タンパク質合成の速度や精度、mRNA の安定性、タンパク質の品質維持に関わります。しかし、tRNA は互いによく似た配列を持ち、多数の化学修飾を含むた

め、従来のシーケンス解析では種類の識別や正確な定量が困難でした。

研究グループは、構築した深層学習モデル tyCooNN に tRNA ごとの電流シグナルの特徴を学習させ、「ナノ tRNA 分類器（nano tRNA classifier）」を開発しました。この分類器は、電流シグナルを塩基配列へ変換するベースコール（注 5）を介さず、電流パターンから tRNA の種類を直接識別します。

さらに、精製した tRNA を同じモル数で混合した試料（注 6）を標準として用い、tRNA 種ごとに異なる読み取り効率の偏りを補正することで、異なる tRNA 種の存在量を共通の基準で比較する絶対定量法（注 7）を確立しました。

この手法を大腸菌に適用し、生育段階や栄養条件によって tRNA の組成が変化することを捉えました。また、特定の修飾を持つ tRNA と持たない tRNA の電流シグナルを学習させることで、各 tRNA 種について、修飾を持つ分子の割合（修飾率）を推定できることを示しました。本成果は、tRNA の量と修飾状態の両面から、細胞のタンパク質合成を調べるための解析基盤となります。

本研究成果は、2026 年 11 月 9 日付で学術誌「Nature Communications」に掲載されました。

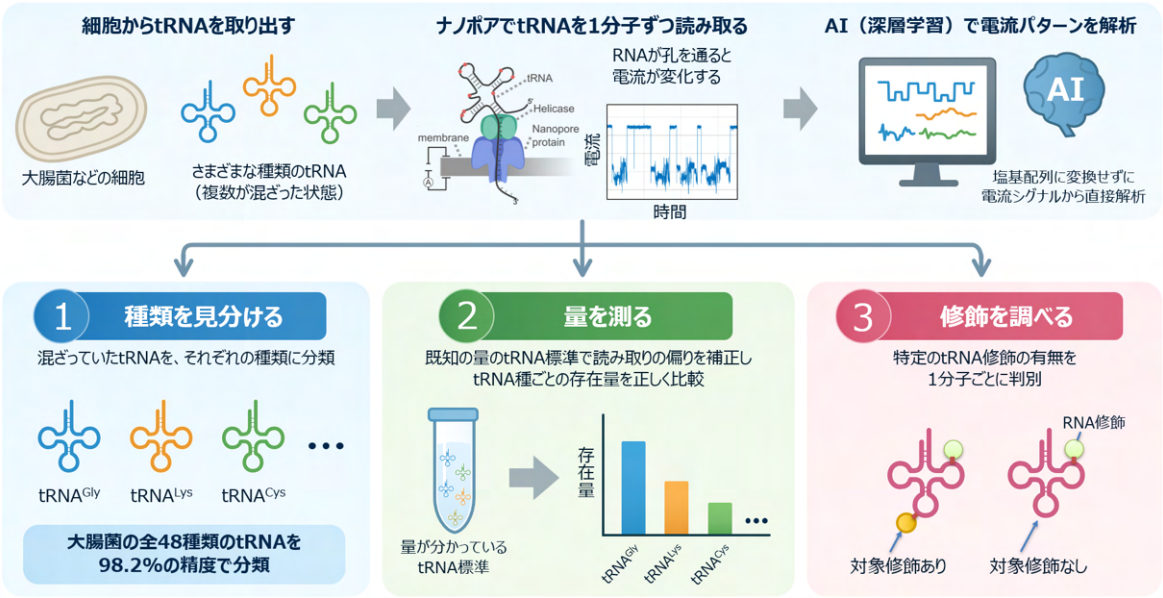


図 1：ナノポア直接 RNA シーケンスと深層学習による tRNA の統合解析

細胞から回収した tRNA をナノポアシーケンサーで測定し、得られた電流シグナルを深層学習モデルで直接解析する。tRNA の種類を識別し、等モル混合標準を用いて読み取り効率の偏りを補正することで、種類ごとの存在量を定量する。さらに、特定の RNA 修飾の有無を 1 分子ごとに判別し、修飾率を推定する。

発表内容

〈研究の背景〉

生命活動を支えるタンパク質は、DNA の遺伝情報を写し取った mRNA に基づいて合成されます。この過程を「翻訳」と呼びます。tRNA は、mRNA 上の 3 塩基からなる遺伝暗号「コドン（注 8）」を読み取り、対応するアミノ酸をタンパク質合成の場であるリボソーム（注 9）へ運びます。

細胞内には多数の tRNA 種が存在し、その量は一様ではありません。また、tRNA には転写後に多様な化学修飾が導入され、tRNA 分子自体の安定性やコドンの読み取り能力が調節されます。tRNA の量や修飾状態の変化は、翻訳効率だけでなく、mRNA の安定性や新しく作られるタンパク質の折りたたみにも関わります。そのため、「どの tRNA が、どれだけ存在し、どのよ

うな修飾を受けているか」を正確に把握することが重要です。

一般的な RNA シーケンス解析では、RNA を相補的 DNA（cDNA）に変換する逆転写反応を行います。しかし、tRNA に密集する修飾は、逆転写を途中で停止させたり、誤った塩基の取り込みを引き起こしたりします。その結果、同じ量の tRNA が存在していても、種類によって得られる読み取りデータ（リード）の数に偏りが生じ、存在量を正しく比較しにくいという問題がありました。

ナノポア直接 RNA シーケンスでは、RNA を DNA に変換せず、RNA 分子が微小な孔を通過する際の電流変化を測定します。通常の解析では、電流シグナルをベースコールによって塩基配列へ変換した後、既知の配列と照合する「配列マッピング」によって RNA の種類を判定します。しかし、tRNA の修飾によってこの変換に誤りが生じると、配列がよく似た tRNA を区別することが難しくなります。そこで研究グループは、電流シグナルを直接利用して tRNA を分類する方法と、読み取り数の偏りを補正する定量法の開発に取り組みました。

〈研究の内容〉

1. 精製 tRNA 由来の電流シグナルを学習し、tRNA 種を直接識別

研究グループはまず、大腸菌の tRNA を用いて、種類が分かっている学習用データを準備しました。48 種類の tRNA のうち 40 種類を個別に精製し、配列が極めて似ている残り 8 種類は 2 種類ずつ 4 組として回収しました。こうして得た 44 画分の精製 tRNA について、RNA 質量分析法（注 10）で品質を確認し、ナノポア直接 RNA シーケンスで電流シグナルを測定しました（図 2）。

次に、電流波形の局所的な特徴と、波形全体にわたる特徴を学習するニューラルネットワークを組み合わせ、深層学習モデル tyCooNN を構築しました。既知の tRNA 種と対応する電流シグナルを教師データとして学習させることで、入力されたシグナルから tRNA の種類を判定するナノ tRNA 分類器を開発しました（図 2）。

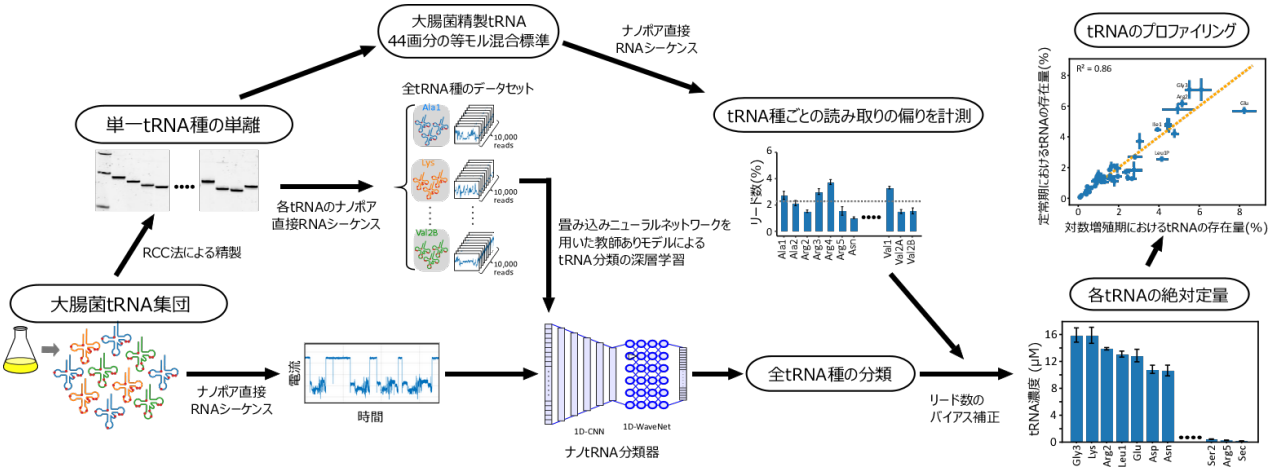


図 2：ナノ tRNA 分類器を用いた細胞内 tRNA の分類・定量の流れ

精製した tRNA から得た電流シグナルと tRNA 種の対応を深層学習モデルに学習させ、ナノ tRNA 分類器を構築する。一方、精製した 44 画分の tRNA を等モル量で混合した標準試料を用いて、tRNA ごとの読み取り効率の偏りを測定する。細胞由来の tRNA 混合試料について、電流シグナルから tRNA 種を分類し、標準試料から求めた補正係数を用いて存在量を定量する。この分類と定量補正を組み合わせることで、生育条件に伴う tRNA 組成の変化を解析する。

44 画分の tRNA に対応する分類群を識別する ntc44 モデルは、比較評価において平均 99.1%の分類精度を示し（図 3A）、入力リードの 82.7%を分類結果として保持しました（図 3B）。分類精度は、本研究で比較した 3 種類の配列マッピング法を上回りました。さらに、個別に精製できなかった 4 組の tRNA についても、人工的に合成した tRNA のデータなどを利用して識別する手順を開発しました。これを組み込んだ ntc48 モデルは、大腸菌の全 48 種類の tRNA を区別し、98.2%の分類精度を達成しました。この方法は、塩基配列や RNA 修飾に応じて変化する電流シグナルの特徴を学習し、tRNA を識別するための情報として利用する点に特徴があります。

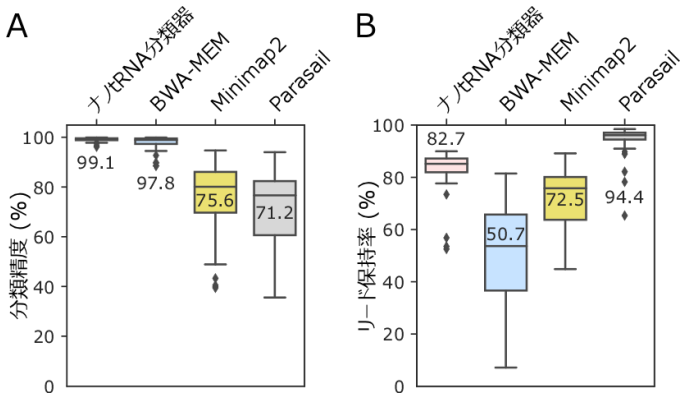


図 3：高い分類精度とリード保持率を両立するナノ tRNA 分類器

ナノ tRNA 分類器（ntc44）と、ベースコールおよび配列マッピングに基づく従来法（BWA-MEM、Minimap2、Parasail）について、大腸菌 tRNA の 44 画分に対応する分類群を対象に、分類精度（A）とリード保持率（B）を比較した。リード保持率は、入力した読み取りデータのうち、分類結果として採用されたデータの割合を示す。各箱ひげ図は 44 画分の分類群における値の分布を示し、箱内の線は中央値、箱は第 25〜第 75 百分位、ひげは箱の下端・上端からそれぞれ四分位範囲の 1.5 倍以内にある最小値と最大値を表す。ひげの外側の点は外れ値、図中の数値は平均値（%）を示す。ntc44 は、比較した手法の中で最も高い平均分類精度（99.1%）を示しながら、82.7%のリードを保持した。

2. 等モル混合標準を用いて読み取りの偏りを補正し、絶対定量を実現

tRNA を正しく分類できても、読み取り数をそのまま分子の存在量と見なすことはできません。試料調製や測定の過程で、tRNA 種によって読み取られやすさが異なるためです。そこで研究グループは、精製した 44 画分を等モル量で混合した標準試料を作製し、この「読み取りバイアス」を実測しました（図 2）。

標準試料では各画分を同じモル数ずつ混ぜているにもかかわらず、得られるリード数にはばらつきが認められました。また、その偏り方はナノポアシーケンスとイルミナシーケンスで異なりました。そこで、両手法それぞれについて標準試料から補正係数を求め、細胞由来試料の測定値を補正しました。

定常期の大腸菌由来 tRNA を両手法で測定したところ、測定値の相関の強さを示す決定係数（R^2）は、補正前の 0.25（図 4A）から補正後には 0.86（図 4B）へと向上しました。この結果は、読み取りバイアスを補正することで、異なる手法で得られた定量結果の相関が改善することを示しています。さらに、48 種類を識別するモデルと組み合わせ、全 tRNA 種が総 tRNA 量に占める割合を求めました。既報の細胞内総 tRNA 濃度を用いることで、各 tRNA の細胞内濃度も推定しました。定常期の大腸菌では、最も多い $tRNA^{Gly3}$ が総 tRNA 量の約 7%を占める一方、最も少ない $tRNA^{Sec}$ は 0.07%にとどまり、約 100 倍の量的な差が認められました。また、存在量の多い 9 種類だけで総 tRNA 量の約半分を占めていました。

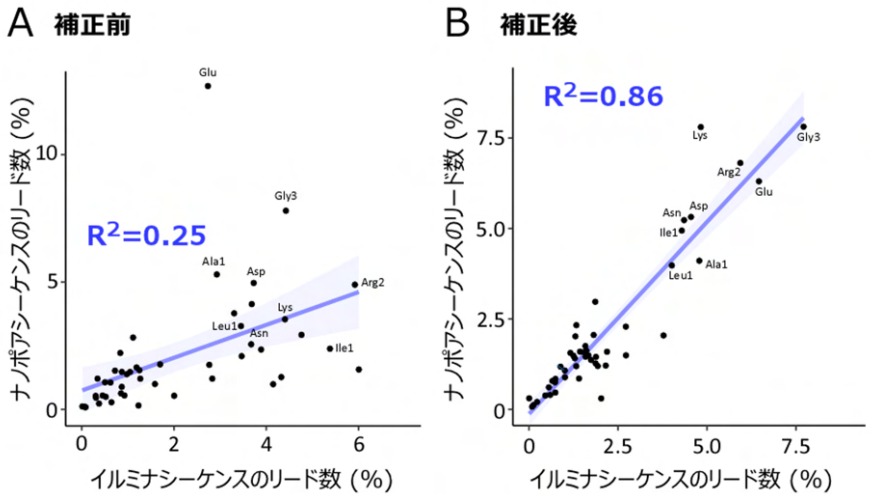


図 4：等モル混合標準による読み取りバイアスの補正と tRNA の定量

精製した大腸菌 tRNA の 44 画分を等モル量で混合した標準試料から、各分類群の読み取り効率の偏りを求めた。定常期の大腸菌由来 tRNA を 44 の分類群にまとめ、ナノポアシーケンスとイルミナシーケンスで得たリードの割合（A）と、標準試料に基づく補正後の存在割合（B）を比較した。各点は 1 つの分類群を表す。測定値の相関を示す決定係数（R^2）は、補正前の 0.25 から補正後には 0.86 へと向上した。実線は回帰直線、帯はその 95%信頼区間を示す。

3. 生育段階や栄養条件に応じた tRNA 組成の変化を捉える

確立した定量法を用いて、大腸菌が盛んに増殖する対数増殖期と、増殖が停滞する定常期を比較しました。両条件の tRNA 組成は全体として類似していましたが、個々の tRNA が総 tRNA 量に占める割合には変化が認められました。例えば、Glu、Leu1P、Gln2、Trp の tRNA は対数増殖期に多く、Gly1、Leu4、Thr2、Thr3、Thr4 の tRNA は定常期に増加していました（図 5A）。

さらに、各 tRNA が解読できるコドンとの対応関係を整理し、mRNA の発現量を考慮したコドン使用頻度と tRNA 量を比較しました。両者の間には相関が認められ、タンパク質合成に使われるコドンと、それを読み取る tRNA の量的な対応が示されました。

栄養条件の異なる培地を比較した場合にも、tRNA の組成に変化が見られました。栄養を豊富に含む LB 培地と比べ、必要な栄養成分を限定した M9 培地では、Thr4、Arg5、Gly2 などの tRNA の存在割合が低下する一方、fMet2、Glu、Trp などの存在割合は増加しました（図 5B）。

また、硫黄を含む修飾である 4-チオウリジン（s^4U）を作れない Δ*thiI* 株では、一部の tRNA の量が低下しました（図 5C）。特定の RNA を検出する別の方法であるノーザンブロット解析でも、$tRNA^{Cys}$ の量は野生型のおよそ 5 分の 1 に減少していました。この結果は、s^4U 修飾が一部の tRNA の安定性に寄与するという既報の知見と整合します。

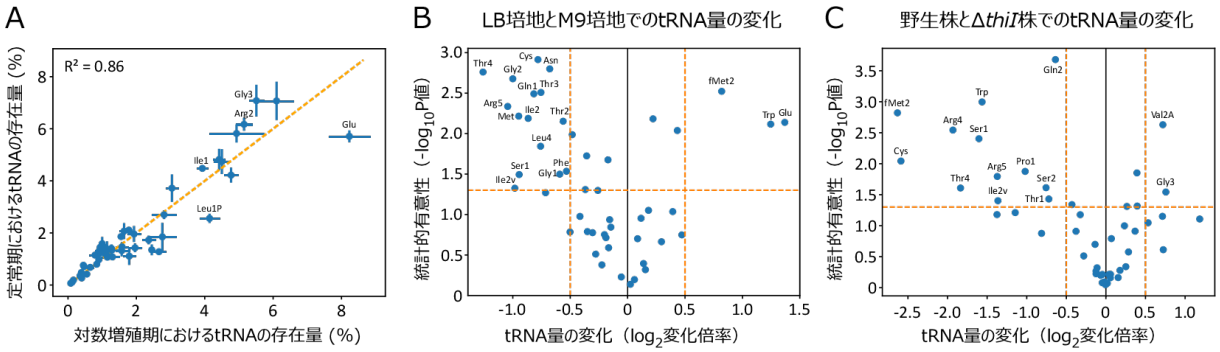


図 5：生育条件および修飾欠損に伴う tRNA 量の変化

（A）対数増殖期と定常期の野生型大腸菌における tRNA 存在量の比較。各点は 1 種類の tRNA を表し、総 tRNA

量に占める割合の平均値±標準偏差を示す（独立した生物学的反復 3 回）。破線は両条件で存在割合が等しい場合の位置を示す。

（B、C）M9 培地と LB 培地（B）、および s^4U を作れない Δ*thiI* 株と野生型（C）の比較。各点は 1 種類の tRNA を表す。横軸は存在割合の変化を示す $\log_2$ 変化倍率で、B は M9／LB、C は Δ*thiI*／野生型の比を用いた。右側ほど M9 培地または Δ*thiI* 株で多く、左側ほど少ないことを示す。縦軸は$-\log_{10}$ P 値で、上方ほど P 値が小さい。縦の破線は $\log_2$ 変化倍率±0.5、横の破線は P＝0.05 を示す。各条件で独立した生物学的反復 3 回を行った。検定には両側 Welch の t 検定を用いた。

4. 特定の RNA 修飾の有無を 1 分子ごとに判別

研究グループは次に、深層学習モデル tyCooNN を基に、特定の修飾を持つ tRNA と持たない tRNA を区別する二値分類器（注 11）を構築しました。野生型の大腸菌と、対象の修飾を作る酵素の遺伝子を欠損させた大腸菌から tRNA を回収し、同じ tRNA 種について両者の電流シグナルを学習させました。こうして構築した分類器により、対象の修飾の有無を 1 分子ごとに判別し、各 tRNA 種について修飾を持つ分子の割合（修飾率）を推定できるようになりました（図 6A）。

この手法を、4-チオウリジン（s^4U）、7-メチルグアノシン（m^7G）、acp^3U、および 55 位のシュードウリジン（Ψ55）の 4 種類の修飾（注 12）に適用し、ベースコールと配列マッピングに基づく従来法と比較しました。その結果、検出感度は修飾や tRNA の種類によって異なるものの、二値分類器は全体として従来法よりも高い検出感度を示しました。特に、今回比較した従来法では検出が難しかった s^4U についても、複数の tRNA 種で検出できました（図 6B）。

今回比較した従来法では、修飾によって生じる塩基配列の「読み間違い」を手がかりに修飾を推定しますが、tRNA には多数の修飾が密集しているため、それぞれの影響を区別することが困難でした。これに対し、本手法は tRNA 分子全体の電流シグナルに含まれる特徴を直接学習し、対象の修飾を識別します。これらの成果は、複雑な修飾を持つ tRNA についても、特定の修飾の有無とその割合を調べるための有効な解析手法となることを示しています。

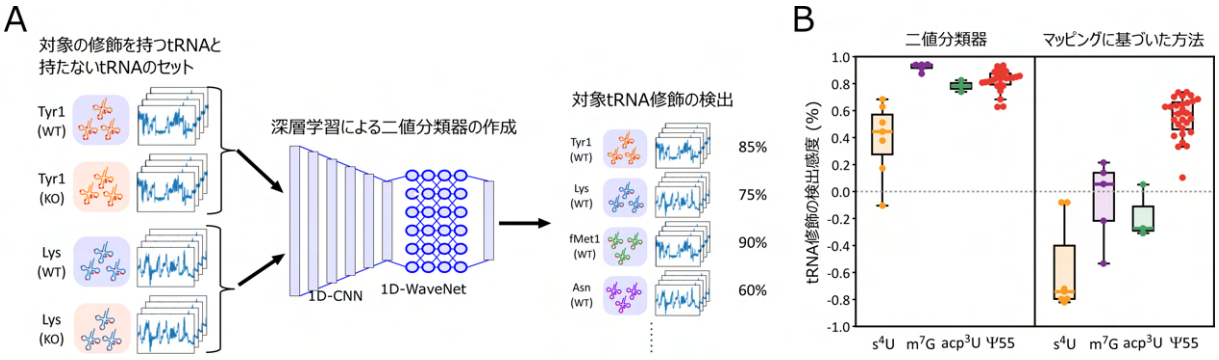


図 6：深層学習による tRNA 修飾の 1 分子検出

（A）特定の tRNA 修飾を検出する二値分類器の構築と解析の流れ。野生型（WT）と対象の修飾を欠く株（KO）から得られた同じ tRNA 種について、ナノポア電流シグナルを学習させ、tRNA 種ごとに修飾の有無を識別する分類器を構築する。学習済みの分類器を用いて 1 分子ごとに判別し、対象修飾を持つ分子の割合を推定する。

（B）二値分類器と、ベースコールおよび配列マッピングに基づく従来法による、s^4U、m^7G、acp^3U および Ψ55 の検出感度の比較。各点は 1 種類の tRNA の解析結果を表す。解析した tRNA 種数は、それぞれ 7、5、3、27 である。箱内の線は中央値、箱は第 25～第 75 百分位、ひげは箱の下端・上端からそれぞれ四分位範囲の 1.5 倍以内にある最小値と最大値を示す。検出感度は修飾や tRNA 種によって異なるが、二値分類器は全体として高い値を示した。

〈今後の展望〉

本研究は、RNA を物質として精製する生化学的手法と、電流シグナルを直接学習する情報解析を組み合わせ、tRNA の種類・存在量・修飾状態を調べる基盤を構築したものです。修飾に伴うシグナルの変化も識別のための情報として活用することと、既知組成の標準試料で読み取りの偏りを補正することが、解析精度の向上につながりました。

今回の成果は大腸菌で検証したものであり、他の生物への適用には、それぞれの tRNA に対応したモデルの学習と性能検証が必要です。今後は、ヒトを含む他の生物の tRNA についても学習用データと定量用標準を整備し、発生、環境応答、がんや神経変性疾患などに伴う tRNA 量と修飾状態の変化を調べることが可能となります。

本成果により、tRNA の量と修飾状態を共通の枠組みで解析することで、細胞内にどの tRNA が、どれだけ存在し、どのような修飾を受けているかを正確に把握でき、翻訳効率、コドンの使われ方、mRNA の安定性、タンパク質の品質維持を結びつけた研究が進むと考えられます。さらに、タンパク質生産や合成生物学における翻訳系の設計にも役立つ可能性があります。

発表者・研究者等情報

東京大学
先端科学技術研究センター
上田　宏生　特任講師
兼担：千葉大学健康疾患オミクスセンター特任准教授

大学院工学系研究科 化学生命工学専攻
鈴木　勉　教授

論文情報

雑誌名：Nature Communications
題　名：Absolute quantification and profiling of cellular tRNAs by nanopore sequencing and a deep learning classifier
著者名：Hiroki Ueda*, Mai Maeda, Shunpei Okada, Ryo Noguchi, Bhaskar Dasgupta, Ryo Yamamoto, Miho Furuta, Ayumi Nishi, Asuteka Nagao, Yuriko Sakaguchi, Kenjyo Miyauchi, and Tsutomu Suzuki*
* 責任著者
DOI：10.1038/s41467-026-78563-0
URL：https://www.nature.com/articles/s41467-026-78563-0

研究助成

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業（課題番号：JP26113003、JP26220205、JP18H05272、JP26K21763：鈴木 勉／JP25K09572：上田 宏生）、日本医療研究開発機構（AMED）（課題番号：JP223fa627001：鈴木 勉）、および科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 ERATO「鈴木 RNA 修飾生命機能プロジェクト」（研究総括：鈴木 勉、課題番号：JPMJER2002）などの支援を受けて実施されました。

用語解説

（注 1）tRNA

Transfer RNA（転移 RNA、トランスファーRNA）。mRNA の遺伝暗号を読み取り、対応するアミノ酸をリボソームへ運ぶ RNA。タンパク質合成において、コドンとアミノ酸を対応づけるアダプター分子として働く。同じアミノ酸に対応する tRNA にも複数の種類がある。

（注 2）ナノポア直接 RNA シーケンス

RNA 分子を微小な孔（ナノポア）に通し、その際に生じるイオン電流の変化を測定する手法。RNA を DNA に変換せずに直接測定でき、電流シグナルには塩基配列と化学修飾の情報が含まれる。本研究では、このシグナルを tRNA の分類と修飾検出に利用した。オックスフォードナノポアテクノロジーズ社製の装置を利用した。

（注 3）深層学習

多数の層からなるニューラルネットワークを用いて、データに含まれる特徴を学習する機械学習の一手法。本研究では、tRNA の種類や対象修飾の有無が分かっている電流シグナルを教師データとして用いた。図中の CNN は、データの局所的な特徴を捉える畳み込みニューラルネットワークを表す。

（注 4）RNA 修飾

RNA を構成するヌクレオチドに生じる化学的な変化。tRNA には多様な修飾が存在し、立体構造の安定性やコドンの読み取りなどに関わる。修飾の種類や導入される割合は、細胞の環境や状態に応じて変化する。

（注 5）ベースコール

シーケンサーが測定した信号を塩基配列へ変換する処理。ナノポア直接 RNA シーケンスでは、電流シグナルを A、U、G、C などの配列に変換する。RNA 修飾はシグナルを変化させるため、変換に誤りが生じる場合がある。本研究の分類器は、ベースコール後の配列ではなく、電流シグナルそのものを tRNA の分類に用いる。

（注 6）精製した tRNA を同じモル数で混合した試料

複数の tRNA を同じモル数、すなわち同じ分子数ずつ混ぜた試料。本研究では、40 種類の個別 tRNA 画分と、2 種類ずつを含む 4 組の画分からなる計 44 画分を用いた。

（注 7）本研究における tRNA の絶対定量法

既知組成の標準試料を用いて読み取り効率の偏りを補正し、異なる tRNA 種の存在量を共通の基準で比較する定量。本研究では各 tRNA が総 tRNA 量に占める割合を求め、既報の細胞内総 tRNA 濃度と組み合わせて各 tRNA の濃度を推定した。細胞内濃度はこの基準に基づく推定値であり、個々の細胞内の分子数を直接数えたものではない。

（注 8）コドン

mRNA 上の 3 塩基からなる遺伝暗号の単位。アミノ酸の種類や、タンパク質合成の開始・終了を指定する。同じアミノ酸に対応するコドンでも、それを読み取る tRNA の量や性質によって翻訳の効率が変わる。

（注 9）リボソーム
mRNA の遺伝情報に従ってアミノ酸をつなぎ、タンパク質を合成する RNA とタンパク質の複合体。tRNA が運んできたアミノ酸を順番につなぐ、翻訳の場として働く。

（注 10）RNA 質量分析法
RNA を酵素で短い断片などに分解し、液体クロマトグラフィーで分離した後、質量分析計で調べる手法。分子の質量や断片の情報から、RNA の種類、修飾の化学構造や修飾率を調べる。本研究では、精製 tRNA の品質確認や、修飾率推定を検証するための Ψ55 の測定などに用いた。

（注 11）二値分類器
入力データを 2 つの分類のどちらかに割り当てる解析モデル。本研究では、同じ tRNA 種について「対象の修飾がある」「対象の修飾がない」の 2 群の電流シグナルを学習させ、1 分子に由来する読み取りデータごとに分類した。

（注 12）本研究で解析した tRNA 修飾（s^4U、m^7G、acp^3U、Ψ55）
s^4U（4-チオウリジン）、m^7G（7-メチルグアノシン）、acp^3U（3-アミノカルボキシプロピルウリジン）、Ψ（シュードウリジン）は、tRNA に含まれる化学修飾の名称・略号。Ψ55 の「55」は tRNA 上の位置を示す。本研究では、それぞれの修飾を作る酵素を欠く大腸菌を対照として、同じ tRNA 種の電流シグナルから対象修飾の有無を判別した。

問合せ先

〈研究内容について〉
東京大学 大学院工学系研究科　教授
鈴木　勉（すずき　つとむ）

東京大学 先端科学技術研究センター　特任講師
（千葉大学健康疾患オミクスセンター特任准教授兼担）
上田　宏生（うえだ　ひろき）

〈機関窓口〉
東京大学 大学院工学系研究科 広報室

科学技術振興機構 広報課

千葉大学 広報室

〈JST 事業に関する問合せ〉
科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部 推進第 2 グループ
今林　文枝（いまばやし　ふみえ）